

IN THE U.S. PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Kee-Yoeup PAEK Conf.:  
Appl. No.: 09/993,136 Group:  
Filed: December 3, 2001 Examiner:  
For: THE METHOD FOR THE MASS PROPAGATION OF  
ADVENTITIOUS ROOTS OF GINSENG, CAMPHOP  
GINSENG AND WILD GINSENG BY TISSUE  
CULTURE AND THE IMPROVEMENT OF THEIR  
SAPONIN CONTENT

L E T T E R

Assistant Commissioner for Patents  
Washington, DC 20231

January 15, 2002

Sir:

Under the provisions of 35 U.S.C. § 119 and 37 C.F.R. § 1.55(a), the applicant(s) hereby claim(s) the right of priority based on the following application(s):


<u>Country</u>	<u>Application No.</u>	<u>Filed</u>
KOREA	2001-0003284	January 19, 2001
KOREA	2001-0003285	January 19, 2001

A certified copy of the above-noted application(s) is(are) attached hereto.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies, to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fee required under 37 C.F.R. §§ 1.16 or 1.17; particularly, extension of time fees.

Respectfully submitted,

BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP

By   
Joseph A. Kolasch, #22,463

P.O. Box 747  
Falls Church, VA 22040-0747  
(703) 205-8000

JAK/mag  
3884-0101P

Attachment

# 대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL  
PROPERTY OFFICE



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto  
is a true copy from the records of the Korean Intellectual  
Property Office.

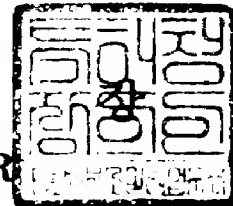
출원번호 : 특허출원 2001년 제 3284 호  
Application Number PATENT-2001-0003284

출원년월일 : 2001년 01월 19일  
Date of Application JAN 19, 2001

출원인 : 백기엽  
Applicant(s) BEAK, GI-YE08

2001 년 11 월 26 일

특 허 청  
COMMISSIONER



## 【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0001
【제출일자】	2001.01.19
【발명의 명칭】	조직 배양에 의한 인삼, 장뇌삼, 산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법
【발명의 영문명칭】	The method for increasing saponin content and controlling the ratio of triol and diol during adventitus roots culture in ginseng
【출원인】	
【성명】	백기엽
【출원인코드】	4-1998-020740-5
【대리인】	
【성명】	홍성표
【대리인코드】	9-2000-000223-9
【포괄위임등록번호】	2001-003430-2
【대리인】	
【성명】	이선행
【대리인코드】	9-1998-000432-1
【포괄위임등록번호】	2001-003428-2
【대리인】	
【성명】	이현재
【대리인코드】	9-2000-000222-2
【포괄위임등록번호】	2001-003429-0
【발명자】	
【성명】	백기엽
【출원인코드】	4-1998-020740-5
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김윤수
【성명의 영문표기】	KIM, YUN S00
【주민등록번호】	710318-1390717
【우편번호】	360-568

**【주소】** 충청북도 청주시 상당구 주중동 화인빌라 101동 311호  
**【국적】** KR  
**【발명자】**  
**【성명의 국문표기】** 유기원  
**【성명의 영문표기】** YU,KEE WON  
**【주민등록번호】** 681210-1538714  
**【우편번호】** 585-862  
**【주소】** 전라북도 고창군 대산면 광대리 417.  
**【국적】** KR  
**【발명자】**  
**【성명의 국문표기】** 김선자  
**【성명의 영문표기】** KIM,SUN JA  
**【주민등록번호】** 760514-2721218  
**【우편번호】** 390-150  
**【주소】** 충청북도 제천시 화산1동 518.  
**【국적】** KR  
**【발명자】**  
**【성명의 국문표기】** 한은주  
**【성명의 영문표기】** HAHN,EUN JOO  
**【주민등록번호】** 641215-2037421  
**【우편번호】** 361-201  
**【주소】** 충청북도 청주시 흥덕구 분평동 분평주공아파트 515동 1306호  
**【국적】** KR  
**【심사청구】** 청구  
**【취지】** 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인  
 홍성표 (인) 대리인  
 이선행 (인) 대리인  
 이현재 (인)  
**【수수료】**  
**【기본출원료】** 15 면 29,000 원  
**【가산출원료】** 0 면 0 원  
**【우선권주장료】** 0 건 0 원

1020010003284

출력 일자: 2001/11/28

【심사청구료】	4      항	237,000   원
【합계】		266,000   원
【감면사유】	개인 (70%감면)	
【감면후 수수료】		79,800   원

## 【요약서】

## 【요약】

본 발명은 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법에 관한 것으로서, 더욱 상세하게는 인삼, 장뇌삼, 산삼 중 어느 하나를 조직 배양하여 얻은 부정근을 생장조절제로 전처리하는 단계와,

상기 전처리한 부정근을 자스모닉산이나 메틸 자스몬산을 처리한 배지에 접종하는 단계와,

상기 접종한 부정근을 풍선형 또는 원추형 생물반응기내에서 광처리 하에서 배양하는 단계와,

상기 부정근을 배양하는 배지를 수확 5~10일전 질소무첨가 배지로 교환하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 하는 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법에 관한 것이다.

이와 같은 방법에 따르면 사포닌 함량을 증가시키고 diol계 사포닌과 triol계 사포닌의 비율을 자연삼과 유사한 수준으로 조절한 부정근의 생산이 가능해짐으로써 상품성 및 기능적 이용 가치가 증가된 부정근을 제공할 수 있다.

## 【색인어】

인삼, 장뇌삼, 산삼, 부정근, 사포닌

## 【명세서】

## 【발명의 명칭】

조직 배양에 의한 인삼, 장뇌삼, 산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법{The method for increasing saponin content and controlling the ratio of triol and diol during adventitus roots culture in ginseng}

## 【발명의 상세한 설명】

## 【발명의 목적】

## 【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

- <1> 인삼은 식물학적으로 오가과(Araliaceae), 인삼속(Panax)에 속하는 식물로서 뿌리를 약용으로 이용한다.
- <2> 세계적으로 여기에 속하는 식물종은 6~7종이 알려지고 있으나 경제적으로 재배되어 인삼 시장에서 상품으로 유통되고 있는 인삼종은 크게 3가지 종류가 있다.
- <3> 지리적으로 아시아 극동지역에 분포, 재배되고 있는 'Panax ginseng C.A.Meyer'의 식물명을 가진 인삼은 전통적으로 중국의 한방 생약 중 가장 중요한 강장약으로 이용되어왔다.
- <4> 인삼은 예로부터 여러 가지 질병의 치료와 병의 회복 촉진에 놀라운 효험을 발휘하는 효능을 발휘해왔고 이러한 인삼의 효능에 대하여 인삼의 약효 성분과 약리적 효능을 탐구하기 위하여 광범위한 연구를 계속하고 있으며 지금까지 과학적으로 밝혀진 대표적 효능으로는 신체 조절 기능의 항상성 유지 작용이라 할 수

있으며 이러한 작용에 근거하여 항피로 및 항스트레스 작용, 항당뇨 작용, 혈압 조절 작용, 항암작용, 동맥 경화 및 고혈압의 예방, 두뇌 기능 강화, 위장 기능 강화, 면역 기능 강화, 항바이러스 작용 등이 보고되고 있다.

<5> 이러한 인삼의 주요 유효 성분으로는 사포닌, 사포게닌, 폴리아세틸렌, 피라진 유도체, 말톨 등이 알려져 있다.

<6> 인삼 사포닌은 화학구조의 특성에 따라 protopanaxadiol계, protopanaxatriol계 그리고 oleanonane계 사포닌으로 구분하는데, 현재까지 각각 19종, 10종, 1종의 화합물이 분리 정제되었으며, diol계와 triol계는 체내에서의 약리 작용이 서로 다른 것으로 알려져 있다.

<7> 이와 같은 인삼 사포닌은 중추 신경 억제 작용, 단백질 합성 촉진 작용, 부신 피질 호르몬 분비 촉진 작용, 인슐린 유사 작용, 해독 작용, 항염증, 혈소판 응집 억제 등 이외에도 많은 효능이 보고되고 있다.

<8> 지금까지 식물 조직 배양 기술을 이용한 인삼의 캘러스 및 세포 현탁 배양 그리고 대량 배양하는 기술은 주로 고려인삼, 미국 인삼, 전칠삼을 중심으로 소규모 배양에서 출발하고 있으며 일부 학회지에 이미 세포 및 캘러스의 증식, 사포닌 및 다당류 함량에 관한 분석 비교가 보고되어 있다.

<9> 또한 일본에서는 세포 배양을 통한 상품화가 이루어지고 있으며 특허화된 것도 있다(일본 공개특허 제 소58-43725호, 제 소58-43726호, 제 소58-43737호).



<10> 그러나 재배삼, 장뢰삼, 산삼의 조직으로부터 캘러스를 얻고 이들 조직에서 부정근을 유기시켜 대량 증식시키면 부정근은 대량 생산이 가능하지만 자연삼에 비해 사포닌 함량이 낮고 diol:triol의 비율이 자연삼에 비해 큰 차이가 나기 때문에 경제성의 측면에서 문제가 발생할 수 있었다.

<11> 또한 재배삼, 장뢰삼, 산삼의 부정근 배양시 증식 과정이나 수확 후 사포닌 함량을 현저히 증가시키고 diol계 사포닌과 triol계 사포닌의 비율을 자연삼과 비슷하게 조절할 수 있는 방법에 관한 연구는 전무한 실정이다.

#### 【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<12> 본 발명은 상기의 사항들을 고려하여 안출한 것으로서, 본 발명의 목적은 재배삼, 장뢰삼, 산삼으로부터 채취한 뿌리, 잎, 줄기 조직을 조직 배양하여 형성된 캘러스에서 부정근을 유도한 다음, 이와 같이 유도된 부정근을 진탕 배양 또는 생물반응기 배양을 통하여 대량 증식시키는 과정에 있어서 사포닌 함량을 재배삼이나 산삼등의 자연삼보다 증가시키고 사포닌의 조성 비율을 자연삼과 유사한 수준으로 유도할 수 있는 최적의 배양 조건을 규명하여 상품성 및 기능성이 우수한 기내 부정근을 생산할 수 있는 조직 배양에 의한 인삼·장뢰삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법을 제공하는데 있다.

#### 【발명의 구성 및 작용】

<13> 이와 같은 목적을 달성하기 위해서 본 발명에 따른 조직 배양에 의한 인삼·장뢰삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법은 인삼, 장뢰삼, 산삼 중의 어느 하나를 조직 배양하여 얻은 부정근을 생장조절제로 전처리하는 단계와,

- <14>      상기 전처리한 부정근을 자스모닉산이나 메틸 자스몬산을 처리한 배지에 접종하는 단계와,
- <15>      상기 접종한 부정근을 풍선형 또는 원추형 생물반응기내에서 광처리 하에서 배양하는 단계와,
- <16>      상기 부정근을 배양하는 배지를 수확 5~10일전 질소무첨가 배지로 교환하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 하는 것으로서, 사포닌 함량을 증가시키고 diol계 사포닌과 triol계 사포닌의 비율을 자연삼과 유사한 수준으로 조절한 부정근의 생산이 가능해짐으로써 상품성 및 기능적 이용 가치가 증가된 부정근을 제공할 수 있다.
- <17>      이하 본 발명을 상세하게 설명하면 다음과 같다.
- <18>      조직 배양하여 얻은 재배삼, 장뢰삼, 산삼의 부정근을 MS(Murashige-Skoog) 배지, SH(Schenk and Hildebrandt) 배지, B5(Gamborg) 배지에 배양하면 부정근의 증식은 잘 이루어지지만 사포닌 함량이 매우 낮아 상품성이 결여되며 또한 triol계 사포닌과 diol계 사포닌의 비율이 0.5~2.5로 나타나 목표치 1:1 내지 1:2에 못 미치는 경우가 있다.
- <19>      일반적으로 배지에 아무런 처리를 하지 않을 경우 기내에서 생산된 부정근에서의 사포닌 함량은 2% 미만으로 나타나 자연삼에 비해 함량이 부족한 편이다.
- <20>      그러므로 본 발명에서는 기내 부정근 배양 과정 중 또는 수확한 부정근에 대해 사포닌 함량을 현저히 증가시키는 동시에 triol/diol의 비율을 자연삼과 비슷한 수준으로 조절하는 방법을 제시하고자 하였다.

- <21> 따라서 본 발명의 구체적인 기술은 다음의 내용으로 구성된다.
- <22> 인삼, 장뇌삼, 산삼 중 어느 하나를 조직 배양하여 얻은 부정근을 조직 배양용 배지에 배양하기 전 생장조절제로서 사이토키닌류인 BA(benzyl adenine), 2iP, Zeatin, 메틸자스모네이트, TDZ, Kinetin중의 1종 또는 자스모닉산중 어느 하나를 1.0~100mg/L의 양으로 첨가하여 1~10시간 동안 처리한 다음 당 3%, IBA와 NAA중 어느 하나를 0.5~5.0mg/L 양으로 첨가한 MS 배지에 접종하여 pH를 6.0으로 조절한 풍선형 생물반응기에서 배양하였다.
- <23> 상기 생물반응기는 풍선형 외에 원추형 생물반응기를 사용하였을 때에도 사포닌 함량이 높은 결과가 나타나 원추형 생물반응기를 사용하는 것도 바람직할 것으로 판단되었다.
- <24> 상기 생물반응기 내의 부정근 배양 조건은 온도 22~25℃ 그리고 형광등, 청색광, 적색광 중의 1종을 선택하여 생물반응기내에서 처리해 주는 것이 바람직하다.
- <25> 상기와 같은 조건에서 부정근을 배양한 후 수확 5~10일 전 배지를 질소가 첨가되지 않은 배지로 교환해 주며 또한 자스모닉산과 메틸 자스몬산 중 1종을 1.0~10.0mg/L의 양으로 수확 10일 전 생물반응기 내에 7일간 처리해준 후 수확하였다.
- <26> 자스모닉산 또는 메틸 자스몬산을 증식된 부정근을 수확한 후 물로 씻은 다음 1.0~10.0mg/L의 양으로 7일간 처리했을 경우에도 사포닌 함량이 현저히 증가되므로 수확 후의 처리도 바람직하다.

<27> 이하 실시예를 통하여 본 발명을 상세히 설명하면 다음과 같다.

<28> [실시예 1] 생물반응기의 형태가 사포닌 함량에 미치는 효과

<29> 당 3%, IBA 2.0mg/L를 첨가한 MS 배지 또는 SH 배지에 부정근을 1~2cm로 잘라서 접종한 다음 풍선형, 원추형, bulb형, 드럼형 배양 용기와 삼각플라스크를 사용하여 부정근을 배양한 4주 후에 사포닌 함량을 측정하여 그 결과를 표 1에 나타내었다.

<30> 사포닌 함량 측정은 한국 인삼 연초 연구소의 인삼 성분 분석 표준법에 따라 실시하였다.

<31> 【표 1】

배양 용기 형태에 따른 사포닌 함량 비교

배양형태	진세노사이드 함량 (mg · lg 건물중)			진세노사이드 생산량(mg · L)
	Rg 집단	Rb 집단	총합량	
풍선형	4.62	7.72	12.34	124.63
원추형	4.50	7.74	12.14	110.47
bulb형	3.67	5.96	9.63	61.63
드럼형	3.33	4.68	8.01	28.84
삼각플라스크	2.87	4.92	7.79	33.50

<32> 본 실험 결과 사포닌 함량은 풍선형 생물반응기나 원추형 생물반응기에서 배양하였을 때 사포닌 함량이 높았고 삼각플라스크 드럼형은 함량이 낮았다. 따라서 인삼, 장뇌삼, 산삼의 부정근 배양시 풍선형이나 원추형 생물반응기를 이용하는 것이 바람직한 것으로 판단되었다.

<33> [실시예 2] 자스모닉산 및 메틸 자스몬산 처리가 사포닌 함량에 미치는 효과

<34> 재배삼, 장뢰삼, 산삼의 부정근을 풍선형 생물반응기에 배양하면서 배양 초기, 수확 10일전, 수확 후 두 물질을 농도별로 처리하였을 때의 사포닌 함량을 비교하였다.

<35> MS 배지에 당 3%, IBA 2.0mg/L을 첨가하고 pH를 6.0으로 조절한 후 실험을 실시하였다. 자스모닉산 또는 메틸자스모네이트 농도를 0, 1, 2, 5, 10mg/L로 달리하여 수확 10일 전에 처리하는 방법과 수확 후 뿌리를 물로 씻은 다음 설탕을 첨가하지 않은 MS 배지나 수돗물에 자스모닉산 또는 메틸자스모네이트를 넣고 1주일간 처리한 후 사포닌 함량을 측정하여 그 결과를 표 2에 나타내었다.

<36> 【표 2】

자스모닉산의 농도별 효과

자스모닉 산 농도(mg/L)	진세노사이드 함량 (mg · 1g 건물중)			Rb/Rg
	Rg 집단	Rb 집단	총합량	
0	3.92	7.49	11.42	1.95
1	2.83	13.29	16.09	4.68
2	4.46	24.19	28.69	5.45
5	4.15	34.69	38.82	8.43
10	5.53	54.29	59.87	9.83

<37> 배양 초기의 처리는 생장량을 억제시켰으며 수확 10일 전 생물반응기에 처리하거나 수확 후 증식된 부정근을 물로 씻은 다음 자스모닉산이나 메틸 자스몬

산을 처리한 후 7일이 경과하였을 때의 사포닌 함량은 7~8%에 달하여 재배삼의 2~3%에 비하여 사포닌 함량이 현저히 증가되었음을 관찰할 수 있었다. 그러나 diol:triol의 비율이 재배삼에서 관찰되는 것보다 처리구에서 diol계 사포닌의 비율이 현저히 증가하는 경향을 나타내었다.

<38> 따라서 전체 사포닌 함량은 자스모닉산 처리구가 무처리구에 비하여 사포닌의 함량이 6배 이상 증가된 것으로 나타나 자스모닉산 또는 메틸 자스몬산을 처리하는 것이 바람직하다.

<39> [실시에 3] 배지내의 질소 제거가 사포닌 함량에 미치는 효과

<40> 인삼 부정근 배양시 사포닌의 함량을 증가시키기 위하여 5 l 원추형 생물반응기에서 당 3%, IBA 2.0mg/L를 첨가한 MS 배기를 사용하였고 pH는 6.0으로 조절하여 20~30일 동안 최대 부정근 증식이 이루어지게 한 다음 수확 5~10일전 질소가 첨가되지 않은 배지로 교환해 주었을 때의 사포닌 함량을 측정하여 그 결과를 표 3에 나타내었다.

<41> 【표 3】

수확 전 배지내 질소 무첨가가 사포닌 함량에 미치는 영향

처리구	진세노사이드 함량 (mg · 1g 건물중)			비	고
	Rg 집단	Rb 집단	총합량		
대조구	3.8	7.4	11.2		
질소무첨가구	4.6	9.8	15.4		

<42> 표 3의 결과에서 알 수 있듯이 배양용 배기에 적정의 질소를 첨가시켜 부정근이 최대한 증식되도록 한 다음 수확 5~10일 전 배기를 교환하여 주었을 때 사포닌 함량이 증가되었다.

<43> 배지 교환시에는 질산태 및 암모니아태 질소가 전혀 첨가되지 않아야 하며 이 시기에 상기 실시예 2와 같이 자스모닉산을 첨가해주면 사포닌 함량 증가에 더욱 효과적인 결과를 가져올 수 있는 것으로 판단되었다.

<44> [실시예 4] 광원이 사포닌 함량에 미치는 영향

<45> 재배삼, 장뢰삼, 산삼 부정근 배양시 여러 가지 광원을 달리했을 때 사포닌 함량과 diol 및 triol계 사포닌의 비율에 미치는 효과를 조사하기 위해 100ml 삼각플라스크에 상기 실시예 1과 동일한 조건의 MS 배지 30ml를 분주한 후 인삼 부정근을 1~2cm 간격으로 절단하여 접종한 다음 암상태, 형광등, 메틸할라이트, 청색광(430nm), 적색광(650nm)을  $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 의 광도로 16시간 내지 24시간 조명하에서 배양하였다. 배양실 온도는 22~25℃로 조절하였고 4주 후 사포닌 함량을 측정하여 그 결과를 표 4에 나타내었다.

<46>

【표 4】

광도 및 광원이 사포닌 함성에 미치는 효과

광원	생장율	사포닌 함량( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{DW}$ )			사포닌 생산량
		Rg 집단	Rb 집단	총합량	
암	11.41	2.8	4.5	1.61	
형광등	10.09	5.3	3.7	0.70	
메탈할라이드	8.87	3.5	3.4	0.97	
청색광	11.26	3.8	3.9	1.03	
적색광	11.64	3.1	4.1	1.32	
청색+적색	10.09	3.4	2.9	0.85	

<47> 본 실험 결과 암상태에서보다 형광등 하에서 배양하는 것이 생장율은 다소 적하되지만 사포닌 함량이 증가하였으며 특히 triol계 사포닌의 함량을 높일 수 있는 효과적인 방법이었다.

<48> 또한 청색광에서는 자연 상태에서 재배한 인삼의 diol과 triol 비율 1:1에 가장 근접한 1.03의 비율을 보였으며 적색광도 유사한 경향을 나타내었다.

<49> 따라서 인삼류의 부정근 배양시 문제점 중의 하나인 전체 사포닌 함량 중에서 triol계 사포닌 함량을 증가시키는데는 효과적이었으며, 인삼의 부정근 배양시 형광등, 적색광 및 청색광의 처리는 자연 상태에서 재배한 인삼과 비슷한 수준의 사포닌 조성을 유지시키는데 매우 중요한 요인인 것으로 판단되었다.

<50> [실시예 5] 생장조절제 처리가 사포닌 함량 및 비율에 미치는 영향



<51>      생장조절제 중 사이토키닌류인 BA(Benzyl adenine), 2iP, Zeatin, 메틸자스모네이트, TDZ, Kinetin을 재배삼, 장외삼, 산삼의 뿌리조직을 배양하기 전 1~100mg/L 농도로 1시간에서 10시간 전처리한 다음 배양하였다. 전처리 직후 사포닌 함량과 diol:triol의 함량을 비교 분석하여 그 결과를 표 5에 나타내었다.

<52> 【표 5】

배양 전 생장조절제 처리가 사포닌 조성에 미치는 영향

처리	사포닌 함량	트리올/디올	비고
무처리	1.56	2.02	
BA처리	1.23	1.63	TDZ, kinetin, 2iP, Zeatin
메틸 자스모네이트 또는 자스모닉산	6.50	2.40	비슷한 결과 보임

<53>      표 5의 결과에서 알 수 있듯이 전처리한 다음 부정근을 배양하였을 경우에는 사포닌 함량이 5배 정도 증가하면서 triol:diol의 비율은 2.4 정도로 자연 재배삼과 비슷한 수준이었다. 특히 사이토키닌류를 처리했을 경우 사포닌 함량은 낮아지지만 triol:diol의 비율이 자연 재배삼과 매우 유사하게 나타났다.

<54>      따라서 배양 부정근의 triol:diol의 비율을 1:1~1:2로 유지시키고자 할 경우에 배양 전 사이토키닌류나 자스모닉산의 처리는 부정근의 품질을 높이는데 매우 효과적인 결과를 가져올 수 있을 것으로 판단되었다.

<55>      이상에서 본 바와 같이 본 발명에 따른 조직 배양에 의한 인삼·장외삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법은 생물반응기의 형태, 생장조절제의 종류 및 처리 시기, 배지의 질소 첨가 유무, 광원의 종류에 따른 최적 조건을 규명함으로

써 사포닌 함량이 자연삼을 능가하며 그 구성 비율도 자연삼과 유사한 부정근을 배양할 수 있는 우수한 방법임을 알 수 있었다.

**【발명의 효과】**

<56>       상기와 같이 이루어지는 본 발명에 의하면, 조직 배양에 의해 인삼, 장뇌삼, 산삼 부정근을 생물반응기내에서 배양하는 경우 생장조절제, 생물반응기의 형태, 부정근의 최대 생장 이후 질소 공급 중단, 광처리 등 사포닌 함량 및 조성을 개선시킬 수 있는 최적 조건들을 규명함으로써 자연삼보다 사포닌 함량이 2~3 배 높으며, diol계 사포닌과 triol계 사포닌의 구성 비율도 자연삼과 유사한 기내 부정근을 생산할 수 있으며, 고부가가치가 있는 기내 삼을 다양한 수요층에 공급할 수 있다.

1020010003284

출력 일자: 2001/11/28

**【특허 청구범위】****【청구항 1】**

조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 배양 방법에 있어서,

인삼, 장뇌삼, 산삼 중의 어느 하나를 조직 배양하여 얻은 부정근에 생장 조절제로서 BA(benzyl adenine), 2iP, Zeatin, 메틸자스모네이트, TDZ, Kinetin 자스모닉산 중 1종을 1.0~100mg/L의 양으로 첨가하여 1~10시간 동안 전처리하는 단계와,

상기 생장조절제로 전처리한 부정근을 당 3%, IBA와 NAA중 어느 하나를 0.5~5.0mg/L의 양으로 첨가한 MS 배지에 접종하여 pH 6.0, 온도 22~25℃로 조절한 생물반응기내에서 형광등, 청색광, 적색광 중 1종의 광원하에서 배양하는 단계와

상기 배양한 부정근의 수확 10일 전 자스모닉산과 메틸 자스몬산 중 1종을 1.0~10.0mg/L의 양으로 생물반응기 내에 7일간 처리해준 후 수확하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 하는 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법.

**【청구항 2】**

조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 배양 방법에 있어서,

인삼, 장뇌삼, 산삼 중 어느 하나를 조직 배양하여 얻은 부정근에 생장조절제로서 BA(benzyl adenine), 2iP, Zeatin, 메틸자스모네이트, TDZ, Kinetin 자

스모닉산 중 1종을 1.0~100mg/L의 양으로 첨가하여 1~10시간 동안 전처리하는 단계와,

상기 생장조절제로 전처리한 부정근을 당 3%, IBA와 NAA중 어느 하나를 0.5~5.0mg/L의 양으로 첨가한 MS 배지에 접종하여 pH 6.0, 온도 22~25℃로 조절한 생물반응기내에서 형광등, 청색광, 적색광 중 1종의 광원하에서 배양하는 단계와

상기 배양한 부정근을 수확한 후 물로 씻은 다음 자스모닉산과 메틸 자스몬산 중 1종을 1.0~10.0mg/L의 양으로 7일간 처리하는 단계로 구성되는 것을 특징으로 하는 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법.

#### 【청구항 3】

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 생물반응기는 풍선형 생물반응기와 원추형 생물반응기 중 어느 하나인 것을 특징으로 하는 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법.

#### 【청구항 4】

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 배양한 부정근의 수확 5~10일 전 배지를 질소가 첨가되지 않은 배지로 교환해 주는 단계를 추가로 포함하는 것을 특징으로 하는 조직 배양에 의한 인삼·장뇌삼·산삼 부정근의 사포닌 함량 개선 방법.